

UV-bestråling af mikroorganismer

LÆRERVEJLEDNING

Fremstilling af petriskåle med YPD-agar

Opskrift til 10-15 agarplader, 9 cm i diameter:

- Afvej YPD-agar (altså agarpulver med YPD-næringsstoffer - kan købes færdigblandet) svarende til 200 mL færdigt substrat – se vejledning på beholderen (hvis der ikke er nogen vejledning på beholderen, så prøv med 14 g). Overfør det til en 250 mL Bluecapflaske.
- Opslæm agaren i 200 mL *koldt* demineraliseret vand ved omrystning, og lad det suge vand til sig i 15 minutter.
- Sørg for at låget på Bluecapflasken sidder *løst* på. Forsyn låg/flaske med en stump autoklave-indikatorpapir (indikerer med mørke streger når det har været varmet tilstrækkeligt op).
- Autoklaver flasken med indhold i 15 min. ved 121 °C. Husk at sætte Bluecapflasken i autoklavepose og at komme vand i bunden af autoklaven! Flaskerne kan efter afkøling skrues til og opbevares ved stuetemperatur i et par måneder.
- Smelt næringssubstratet i en mikrobølgeovn (pas *meget* på overskumning/stødkogning) eller i 100 °C vandbad i 30 minutter.
- Efter afkøling til ca. 50 °C ophældes det flydende substrat i sterile petriskåle.
 - Hold petriskålens låg så meget hen over bunden som muligt, så kimfaldsrisikoen mindskes.
 - Læg låg på petriskålen med det samme.
 - Stil med det samme de støbte petriskåle oven på hinanden – det mindsker kondensdannelsen.
 - Der skal kunne blive 10-15 YPD-agarplader (9 cm i diameter) af 200 mL substrat, så lav en substrattykkelse på 1½ – 2 mm.
 - Så snart substratet er størknet, kan pladerne opbevares nogen tid i lukkede plasticposer (hindrer udtørring) i køleskab.
- Hvis der er kondensvand i petriskålene når de skal bruges, kan man tørre dem ved at stille bunden skråt oven på låget – begge dele med bunden i vejret for at undgå kimfaldsforurening. 30-60 minutters tørring er ofte nok.

UV-lamperne

Det er vigtigt at bølgelængden på UV-strålerne er højst 254 nm, og at effekten af lampen er 4 W. **Husk ikke at kigge direkte ind i UV-lyset.** Længere bølgelængde er afprøvet uden succes. Afstanden mellem lampe og agarplade er også en afgørende faktor. Man kan formentlig skrue op for effektiviteten ved at mindske afstanden, men hele agarpladen skal jo belyses jævnt (i alt fald tilstrækkeligt), så der er grænser for hvor lille afstanden kan være.

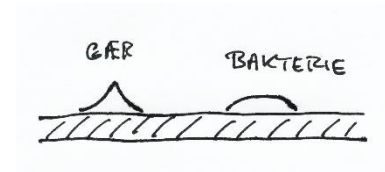
Sterilisering af udstyr

Meget udstyr (fx bægerglas, spatler, og røremagneter) kan tåle autoklaving ved 121 °C. Der kan også med held steriliseres vha. denatureret sprit. Demineraliseret vand steriliseres let ved autoklaving i bluecapflaske.

Andre mikroorganismer

Gærkolonier har især hvis de er lidt større, form i stil med en keglevulkan hvor bakteriekolonier er mere halvkugleformede. Farven er grålig.

Andre svampe kan have mange forskellige farver og former, bl.a. disse:



Forventning til resultater

Man kan forvente at der kommer omkring 50 kolonier på agarpladerne der ikke bestråles, men det er ret svært at få kvantitativt reproducerbare resultater, så der kan være store afvigelser fra det, ligesom det ikke er ualmindeligt at der er stor forskel på hvor mange kolonier der vokser frem på et holds tre ikke-bestrålede plader. Måske synker gærcellerne i de små mikrocenrifugerør hurtigt mod bunden så omrøring lige før man udtager en delprøve er meget afgørende. Til gengæld kan man forvente at gærcellerne bliver slået ihjel af UV-bestrålingen når lampens bølgelængde, intensitet samt afstand til agarpladerne er som beskrevet i vejledningen, så man bør ud fra forsøget kvalitativt kunne konkludere at UV-bestråling kan slå gærceller ihjel.

Vis eleverne

Hvis eleverne ikke før har lavet mikrobiologiske forsøg, er det måske nødvendigt i alt fald at vise dem dette, inden de går i gang med forsøget:

- Brug af mikropipette.
- Spredning af opslæmning vha. drigalskyspatel.
- Brug af reagensglasryster (vortex).
- Hvordan man undgår at løfte låget på petriskålene mere end højst nødvendigt.